

**PENGARUH KONSENTRASI KINETIN DAN TIPE EKSPLAN
TERHADAP PEMBIAKAN *IN VITRO* JABON MERAH
(*Anthocephalus Macrophyllus* (Roxb.) Havil)**

Oleh:
PUTRIANA
M111 10 914



**JURUSAN KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2016**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi Kinetin dan Tipe Eksplan
terhadap Pembiakan *in vitro* Jabon Merah
(*Anthocephalus macrophyllus* (Roxb.) Havil)
Nama Mahasiswa : Putriana
Nomor Pokok : M 111 10 914
Jurusan : Ilmu Kehutanan


Skripsi ini dibuat Sebagai Salah Satu Syarat untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Kehutanan pada
Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin

Menyetujui,
Komisi Pembimbing


Pembimbing I


Prof. Dr. Ir. H. Muh. Restu, M.P.
NIP. 19650904 199203 1 003

Pembimbing II


Gusmiaty, S.P., M.P.
NIP. 19791120 200912 2 002

Mengetahui,
Ketua Panitia Ujian Sarjana Lengkap
Jurusan Kehutanan
Fakultas Kehutanan


Dr. Ir. Syamsuddin Millang, MS.
NIP. 196012311986 011 075

Tanggal Pengesahan: November 2016

ABSTRAK

PUTRIANA. M11110914. Pengaruh Konsentrasi Kinetin dan Tipe Eksplan terhadap Pembiakan *in vitro* Jabon Merah (*Antocephalus macrophyllus* (Roxb.) Havil). Dibimbing oleh Prof. Dr. Ir. Muh. Restu, M.P. dan Gusmiaty, S.P.,M.P.

Jabon merah (*Antocephalus macrophyllus* (Roxb.) Havil) adalah salah satu jenis pohon bersifat pioner dan memiliki daya adaptasi yang sangat baik. Kayunya mudah dikerjakan, lunak dan ringan, memiliki kelas kuat III sampai IV dan kelas awet IV sampai V. Permintaan pasar akan kayu ini semakin meningkat. Pengadaan bibit jabon merah berkualitas dalam jumlah banyak dengan waktu yang relatif singkat sangat dibutuhkan. Pembiakan *in vitro* merupakan salah satu solusi untuk mengatasi hal tersebut. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh penambahan kinetin dan tipe eksplan terhadap pembiakan *in vitro* jabon merah. Penelitian ini diadakan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin Makassar yang dimulai pada bulan Februari sampai dengan bulan Mei 2016. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah konsentrasi kinetin yang terdiri dari 5 taraf yaitu 0 ppm, 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, 7 ppm. Faktor kedua adalah tipe eksplan yang terdiri dari bagian pangkal dan bagian pucuk. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinetin 7 ppm memberikan pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan daun dan akar. Tipe eksplan bagian pucuk merupakan bagian terbaik digunakan untuk pembiakan *in vitro*.

Kata kunci: Jabon Merah (*Antocephalus macrophyllus* (Roxb.) Havil), *in vitro*, kinetin, tipe ekplan, RAL.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahiim.

Segala puji kehadiran Allah ‘azza wa jalla atas atas petunjuk dan kemudahan-Nya penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi penelitian dengan judul **“Pengaruh Konsentrasi Kinetin dan Tipe Eksplan terhadap Pembiakan *In Vitro* Jabon Merah (*Antocephalus macrophyllus* (Roxb.) Havil)”**. Skripsi ini ditulis sebagai tugas akhir dalam menjalani studi sebagai mahasiswa Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin, Makassar.

Jazaakumullahukhairan penulis sampaikan kepada:

1. **Prof.Dr.Ir.H.Muh.Restu, M.P** sebagai pembimbing pertama dan **Gusmiaty, S.P.,M.P** sebagai pembimbing kedua atas waktu, tenaga, pikiran dan kesabaran beliau selama membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.
2. **Ir. Budirman Bachtiar, M.S, Dr.Risma Illa Maulany, S.Hut.,M.Nat.resSt,** dan **Dr. Ir. Syamsuddin Millang, M.S.** selaku dosen penguji, atas waktu, kerjasama dan masukan yang diberikan kepada penulis dalam penyusunan skripsi.
3. **Ayahanda Supriatman dan Ibunda Satria** atas semua kebaikan, dukungan, dan doa yang tiada putusnya yang diberikan kepada penulis yang tak kan mampu terwakilkan dengan kata-kata. Juga kepada saudara-saudariku tercinta, **Samsuri, S.P., Hardianti, M.Yusril, dan Zulqiana** yang senantiasa memberikan motivasi bagi penulis.
4. **Kak Aminah,** dan **Kak Mirza** atas bantuan dan bimbingannya selama penulis melakukan penelitian dan menulis skripsi, serta seluruh **staf dan rekan-rekan Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon** atas motivasi dan dukungannya.
5. **Ukhtiy Indrawati Rajamuddin, S.Si, Rizki Anggraini, S.Hut, Rasmi,** dan **Nurlindasari** yang telah meluangkan waktu menemani penulis penelitian, memberi banyak masukan, motivasi, semangat, dan menjadi pendengar yang baik atas seluruh keluh kesah penulis.

6. **Akhawat Keluarga Mahasiswa Islam (Gamis) Kehutanan Unhas**, dan **Forum Studi Ulul Albaab (FSUA)** atas semangat juang, doa, dan dukungannya. *Innallaha ma'ana*.
7. **Rekan-rekan Mahasiswa Fakultas Kehutanan Unhas Angkatan 2010** atas kebersamaan dan kekompakannya.
8. **Sakaners D5** atas kehangatan yang selalu membersamai penulis selama menyusun skripsi.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi. Kepada semua tangan-tangan tulus yang telah terangkat mendoakan penulis dan tidak bisa kami sebutkan satu-satu, *jazaakunallahukhairan*. Allah pemberi balasan yang terbaik. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat untuk ummat.

Makassar, 21 November 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGESAHAN	
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian.....	3
C. Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Jabon Merah	
1. Sistematika	4
2. Morfologi.....	4
3. Habitus dan Daerah Penyebaran	5
4. Fenologi	6
5. Pemanfataan.....	6
B. Pembiakan <i>In Vitro</i>	
1. Defenisi dan Manfaat Pembiakan <i>in vitro</i>	7
2. Keunggulan dan Kelemahan Pembiakan <i>in vitro</i>	8
3. Tahapan Pembiakan <i>in vitro</i>	10
4. Faktor-faktor yang mempengaruhi Pembiakan <i>in vitro</i>	12
C. Sitokinin dan Kinetin	16
D. Kontaminasi	17
III. METODOLOGI PENELITIAN	
A. Waktu dan Tempat Penelitian	19
B. Bahan dan Alat	

1. Bahan.....	19
2. Alat	20
C. Prosedur Pelaksanaan	
1. Sterilisasi	20
2. Pembuatan Media.....	21
3. Penanaman	22
4. Pengamatan	23
D. Rancangan Percobaan	24
E. Analisis Data	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Kondisi Umum.....	27
B. Waktu Terbentuk Daun.....	29
C. Waktu Terbentuk Akar	31
D. Jumlah Daun	33
E. Jumlah Akar	37
F. Tinggi Tanaman	39
G. Kontaminasi	42
V. PENUTUP	
A. Kesimpulan	44
B. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Teks	Halaman
1.	Kombinasi Perlakuan antara Media MS dengan Konsentrasi Kinetin dan Tipe Eksplan.....	.6
2.	Rata-rata Waktu Terbentuk Daun Pertama Kultur Jabon Merah.....	30
3.	Hasil Uji Duncan Waktu Terbentuk Akar.....	31
4.	Rata-rata muncul Akar Pertama Kultur Jabon Merah.....	32
5.	Hasil Uji Duncan Jumlah Daun pada Konsentrasi Kinetin.....	33
6.	Hasil Uji Duncan Jumlah Daun pada Pengaruh Tipe Eksplan	35
7.	Hasil Uji Duncan Jumlah Akar pada Konsentrasi Kinetin.....	37
8.	Hasil Uji Duncan Jumlah Akar pada Pengaruh Tipe Eksplan.....	37
9.	Hasil Uji Duncan Tinggi Eksplan pada Pengaruh Tipe Eksplan.....	40
10.	Rekapitulasi Kontaminasi pada setiap Perlakuan.....	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Halaman
1.	Rumus Bangun Kinetin.....	17
2.	Gambaran Umum Hasil Penelitian.....	27
3.	Pembentukan Kalus dan Pertumbuhan Cabang.....	28
4.	Eksplan yang Pucat dan Menguning.....	29
5.	Rata-rata Jumlah Daun pada setiap Kombinasi Perlakuan.....	36
6.	Grafik Rata-Rata Pertambahan Jumlah Daun Tiap Pekan.....	36
7.	Grafik Rata-Rata Pertambahan Jumlah Akar Tiap Pekan	38
8.	Rata-rata Tinggi Tanaman pada media berbeda.....	40
9.	Rata-rata Tinggi Tanaman pada Kombinasi Perlakuan	41
10.	Kontaminasi Cendawan dan Kontaminasi Bakteri.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Teks	Halaman
1.	Hasil sidik ragam waktu terbentuknya daun	48
2.	Hasil sidik ragam waktu terbentuk akar.....	48
3.	Hasil sidik ragam pengaruh konsentrasi kinetin dan tipe eksplan terhadap pertambahan jumlah daun jabon	48
4.	Hasil sidik ragam pengaruh konsentrasi kinetin dan tipe eksplan terhadap pertambahan jumlah akar jabon.....	49
5.	Hasil sidik ragam pengaruh konsentrasi kinetin dan tipe eksplan terhadap tinggi tanaman.....	49
6.	Data Pengamatan Waktu Terbentuknya Daun Pertama..... ..	49
7.	Data Pengamatan Waktu Terbentuknya Akar Pertama.....	50
8.	Data Pengamatan Rekapitulasi Jumlah Daun.....	50
9.	Data Pengamatan Rekapitulasi Jumlah Akar	51
10.	Data Pengamatan Rekapitulasi Pertambahan Tinggi Eksplan....	51
11.	Komposisi Larutan Stok untuk Media Murashige and Skoog...	52
12.	Gambar Proses Penanaman (inisisasi).....	52
13.	Gambar Proses Pengukuran Tinggi <i>Planlet</i>	53

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Jabon merah adalah salah satu jenis pohon bersifat pioner, memiliki pertumbuhan cepat dengan berbagai manfaat dan keunggulan. Jenis ini merupakan andalan untuk industri perkayuan karena kayunya mudah dikerjakan, lunak dan ringan, memiliki kelas kuat III sampai IV dan kelas awet IV sampai V. Tanaman jabon merah memiliki kemampuan beradaptasi yang baik pada berbagai tempat tumbuh, bebas hama dan penyakit serius, dan perlakuan silvikultur relatif mudah. Budidaya jabon merah ditujukan untuk hutan tanaman maupun sebagai tanaman pionir rehabilitasi lahan. Berdasarkan permintaan pasar terhadap kayu, jabon merah memiliki permintaan yang semakin meningkat untuk bahan baku industri (Dephut, 2005).

Pengembangan tanaman jabon memerlukan penyediaan bibit unggul karena salah satu aspek yang sangat penting dalam keberhasilan penanaman. Bibit unggul yang tersedia dengan jumlah yang terbatas akan mempengaruhi pengembangan hutan tanaman yang produktif. Upaya penyediaan bibit yang berkualitas dapat dilakukan melalui pembiakan *in vitro* (kultur jaringan). Teknik kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman dan menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap. Teknik ini memiliki beberapa keunggulan dibandingkan cara tradisional, karena selain

menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak dengan waktu yang singkat, teknik ini juga tidak tergantung pada musim.

Faktor yang mempengaruhi kultur jaringan diantaranya adalah jenis eksplan, proses sterilisasi, media kultur, dan zat pengatur tumbuh. Penambahan zat pengatur tumbuh sangat menentukan keberhasilan kultur jaringan, karena jenis dan konsentrasi yang diberikan akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Kinetin (*6-furfurylaminopurine*) merupakan zat pengatur tumbuh golongan sitokinin yang telah banyak digunakan dalam kultur jaringan. Menurut Zaerr dan Mapes dalam Bonga dan Durzan (1982), kinetin adalah sitokinin yang paling potensial menginduksi pertumbuhan tunas pada tanaman kehutanan. Menurut Gunawan (1995), secara umum konsentrasi sitokinin yang digunakan adalah 0,1 mg/L sampai 10 mg/L. Riyadi (2010) dalam penelitiannya menyatakan bahwa kinetin pada konsentrasi 2 mg/L paling banyak menginduksi perkecambahan pada embrio somatik sagu.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penggunaan kinetin (*6-furfurylaminopurine*) pada pembiakan *in vitro* jabon merah dengan konsentrasi yang beragam. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan data dasar tentang konsentrasi kinetin yang tepat untuk kultur jaringan jabon merah.

B. Tujuan dan Kegunaan

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh penggunaan kinetin dalam berbagai konsentrasi terhadap pembiakan *in vitro* jabon merah
2. Mengetahui pengaruh tipe eksplan terhadap pembiakan *in vitro* jabon merah
3. Mengetahui pengaruh interaksi antara konsentrasi kinetin dan tipe eksplan terhadap pembiakan *in vitro* jabon merah

Penelitian ini diharapkan bisa menjadi bahan referensi untuk pengembangan jabon merah secara *in vitro*.

C. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Terdapat salah satu konsentrasi kinetin terbaik untuk pembiakan *in vitro* jabon merah
2. Terdapat salah satu tipe eksplan jabon merah terbaik untuk dikembangkan secara *in vitro*
3. Terdapat interaksi antara konsentrasi kinetin dengan tipe eksplan

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Jabon Merah

1. Sistematika

Halawane dkk (2011) mengklasifikasikan jabon merah sebagai berikut:

Kindom	:	Plantae
Sub Kindom	:	Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	:	Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi	:	Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas	:	Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub kelas	:	Asteridae
Ordo	:	Rubiales
Famili	:	Rubiaceae
Genus	:	<i>Anthocephalus</i>
Spesies	:	<i>Anthocephalus macrophyllus</i> (Roxb.) Havil.

2. Morfologi

Jabon merah merupakan salah satu jenis pohon yang menggugurkan daun (deciduous). Tinggi pohon dapat mencapai 40-45 m dengan tinggi bebas cabang hingga 30 m dan lingkaran batang mencapai 150 cm (diameter 40-50 cm). Secara fisik, batang pohon relatif ramping, lurus, dan terkadang berbanir kecil dengan tinggi 50-150 cm yang menyebar sekitar 60 cm keluar dari pangkal batang. Batang jabon merah berwarna merah kehitaman, warna kayunya kemerah-merahan

menyerupai kayu meranti. Tajuk pohon berbentuk payung dan berukuran relatif kecil. Batang dan daunnya menyebar secara horizontal (Rismawati, 2011).

Pucuk daun berwarna merah dan permukaan daun berbulu. Bentuk daun jabon merah agak oval dan elips dengan arah daun saling berhadapan. Daun jabon merah memiliki ukuran panjang 15-50 cm x lebar 8-25 cm, dengan panjang tangkai 2,5-6 cm. Fisik daun jabon merah agak mirip dengan daun jati dengan permukaan daun sedikit berbulu. Warna daun bawah cenderung agak merah dan ukuran daunnya lebih lebar dibandingkan dengan daun jabon putih. Warna daun jabon merah yang sudah tua, lembar daunnya cenderung lebih merah (Rismawati, 2011).

3. Habitus dan Daerah Penyebaran

Jabon memiliki sebaran alami yang luas, mulai dari India sampai Papua New Guinea, yaitu Nepal, Bengal, Assam, Ceylon, Vietnam, Burma, Semenanjung Malaya, Serawak, Sabah, Indonesia, Filipina, Papua New Guinea, Cina, dan Australia. Walaupun Cina bukan termasuk Negara habitat asli jabon, tetapi jabon masih bisa tumbuh disana. Diluar habitat alaminya, jabon juga ditanam di Costa Rica, Puerto Rica, Afrika Selatan, Suriname, Taiwan, dan Venezuela (Mansur dan Danu, 2010).

Penyebaran alami spesies pohon ini di Indonesia yaitu di Maluku, Maluku Utara, sebagian Sulawesi dan Papua. Secara spesifik jabon merah tidak memiliki syarat tumbuh yang khusus. Jabon merah merupakan salah satu tanaman hutan yang tumbuh baik di daerah tropis. Jenis ini termasuk tanaman pionir yang intoleran, suhu lingkungan optimum untuk pertumbuhan jabon sekitar 22°-29° C dan curah hujan tahunan yang diperlukan sekitar 1.500 - 5.000 mm per tahun. Kemampuan

adaptasi jabon merah tergolong baik terhadap kondisi lingkungan yang kurang optimal dan dapat tumbuh di dataran rendah maupun hutan pegunungan rendah (0-1000 mdpl) dan tumbuh dalam iklim yang sedikit bermusim (Dephut, 2005).

4. Fenologi

Pohon jabon merah mulai berbunga pada umur 4 tahun dan berbunga setahun sekali. Musim berbunga pada bulan Januari hingga Juni dan akan matang pada bulan Maret - Juli. Jumlah buah majemuk 33 buah per kilogram. Buah berbentuk bulat dengan ukuran 4,5 – 6 cm dan memiliki ruang-ruang biji yang sangat banyak, Buah jabon merah seperti buah majemuk yang berukuran kecil dengan bagian tengah padat dikelilingi ruang-ruang biji. Ruang biji berisi kumpulan biji yang berukuran sangat kecil (18-26 juta butir/kg). Biji yang telah dikeringkan dapat bertahan selama satu tahun (Mulyana dkk, 2011).

5. Pemanfaatan

Pohon yang memiliki nama populer yaitu 'samama merah' ini memiliki tekstur halus dan arah serat kayu yang lurus. Warna kayunya merah, tergolong kelas kuat kayu II sampai III. Kemampuan untuk bertahan dari hama secara alamiah termasuk golongan kelas IV dan dari sisi kemampuan pori-pori kayu untuk menyerap bahan pengawet tergolong sedang (Halawane dkk, 2011).

Daya tumbuh tanaman jabon merah di lahan kritis cukup baik, dan dapat dijadikan sebagai *buffer zone* untuk kepentingan konservasi atau daerah penyangga. Pertumbuhan jabon merah termasuk cepat, mampu menyaingi kecepatan tumbuh pohon jenis sengon (*Albasia*). Rata-rata usia panen, empat hingga lima tahun dengan diameter 20-30 cm. Warna kayu yang merah serta teksturnya yang halus

menjadikan kayu ini dapat dimanfaatkan untuk bahan baku *plywood*, *furniture*, kayu lapis (*vinir*), aksesoris rumah dan lain lain (Halawane dkk, 2011).

Pemanfaatan jabon di Indonesia masih terbatas pada kayunya. Di negara lain seperti India, bagian tanaman jabon seperti bunga, buah, daun, kulit kayu, dan akarnya sudah dimanfaatkan secara komersil. Ekstrak daun jabon mengandung senyawa-senyawa kimia yang bersifat anti mikroba. Daun jabon digunakan sebagai obat pelangsing dan obat kumur. Bunga jabon dimanfaatkan sebagai sumber bahan parfum khas India yang disebut ‘attar’. Jabon adalah salah satu jenis pohon yang bunganya dikembangkan untuk mendukung usaha lebah madu. Kulit kayu yang telah kering dapat dimanfaatkan untuk mengobati demam, kolera, stroke, dan disentri (Mansur dan Danu, 2010).

B. Pembiakan *in vitro*

1. Defenisi dan Manfaat Pembiakan *in vitro*

Pembiakan *in vitro* (kultur jaringan) memiliki pengertian yang luas mengenai kultur *in vitro*, yaitu merupakan suatu upaya untuk mengisolasi bagian-bagian tanaman (protoplas, sel, jaringan, dan organ), dan dikulturkan pada nutrisi buatan yang steril dengan kondisi lingkungan terkendali, agar bagian-bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap (Zulkarnain, 2011).

Kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun, mata tunas, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap.

Prinsip utama dari teknik kultur jaringan adalah perbanyakan tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Kegunaan utama kultur jaringan adalah untuk mendapatkan tanaman baru dalam jumlah yang banyak dalam waktu yang relatif singkat, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, serta mempunyai sifat fisiologis dan morfologis yang sama seperti induknya. Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman, khususnya untuk tanaman yang sulit dikembangbiakkan secara generatif (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

2. Keunggulan dan Kelemahan Pembiakan *in vitro*

Pemanfaatan teknologi kultur jaringan untuk tujuan perbanyakan bibit telah diaplikasikan pada berbagai tanaman tahunan antara lain jati, ekaliptus, dan akasia. Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan sangat berbeda dibandingkan dengan perbanyakan secara konvensional, karena melalui kultur jaringan memungkinkan perbanyakan tanaman dalam skala besar dengan waktu yang relatif lebih cepat. Teknik perbanyakan dengan kultur jaringan mempunyai beberapa keunggulan dibandingkan cara tradisional (Santoso dan Nursandi, 2003), antara lain:

- a. Budidayanya dimulai dengan sedikit bahan tanaman (eksplan), kemudian dimultiplikasi menjadi sejumlah tunas. Ini berarti hanya diperlukan sedikit bahan untuk penggandaan sejumlah besar tanaman.

- b. Perbanyakan menggunakan pendekatan lingkungan yang aseptik, bebas dari patogen sehingga merupakan awal seleksi bahan tanaman yang bebas dari penyakit.
- c. Meningkatkan efektivitas perbanyakan klonal tanaman yang hampir punah dan sulit perbanyakan vegetatifnya.
- d. Produktivitas perbanyakan klonal dengan kultur jaringan dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa tergantung pada kondisi perubahan iklim.
- e. Memerlukan areal yang tidak luas untuk keperluan propagasi dan pengelolaan stok tanaman.

Kelemahan teknik perbanyakan dengan kultur jaringan antara lain adalah relatif lebih mahal dan membutuhkan sumberdaya manusia terdidik. Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), untuk mengembangkan tanaman berkayu secara *in vitro* banyak ditemui kesulitan, antara lain :

- a. Eksplan yang berasal dari tanaman dewasa memiliki kemampuan regenerasi yang rendah.
- b. Tanaman berkayu kadang mengeluarkan senyawa yang meracuni media tanam sehingga mengganggu pertumbuhan dan perkembangan kultur.
- c. Daya multiplikasi rendah.
- d. Sulitnya sterilisasi terhadap eksplan pada tanaman induk yang berasal dari lapangan

Kesulitan yang sering terjadi pada kultur *in vitro* tanaman berkayu adalah keluarnya senyawa-senyawa fenolik menyebabkan eksplan mengalami *browning* (berwarna coklat) dan akhirnya tidak tumbuh. Mencegah *browning* pada eksplan

dapat dilakukan dengan memberikan perlakuan gelap (selama inkubasi tidak menggunakan cahaya), menambahkan vitamin C di dalam medium dan dengan memberikan systein di dalam medium (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

3. Tahapan Pembiakan *in vitro*

Tahapan-tahapan kultur jaringan untuk memperbanyak bibit tanaman adalah:

a. Pembuatan media

Media merupakan faktor penentu dalam kultur jaringan. Komposisi media yang digunakan tergantung jenis tanaman yang akan diperbanyak. Media yang digunakan terdiri atas garam mineral, vitamin, dan hormon. Bahan tambahan yang dibutuhkan seperti agar, gula, dan lain-lain. Zat pengatur tumbuh (hormon) yang ditambahkan bervariasi jenis maupun jumlahnya, tergantung tujuan kultur. Pembuatan media kultur jaringan membutuhkan alat-alat gelas yang bersih, berkualitas tinggi, dan cara pengukuran yang tepat dari komponen media. Media merupakan faktor penentu dalam kultur jaringan jaringan yang dilakukan. Media yang sudah jadi ditempatkan pada botol-botol kaca, yang harus disterilkan dengan cara memanaskannya dengan autoklaf (Yuliarti, 2010).

b. Inisiasi

Inisiasi tunas *in vitro* adalah tahapan bahan tanaman atau eksplan ditanam pada media yang mengandung zat pengatur tumbuh untuk merangsang

pertumbuhan tunas pertama. Komposisi media kultur sangat mempengaruhi keberhasilan tahapan ini (Sulistiani dan Ahmad, 2012).

c. Multiplikasi

Multiplikasi tunas adalah tahapan dimana tunas yang terbentuk pada tahapan inisiasi, dirangsang untuk menggandakan diri atau membentuk tunas-tunas baru, baik tunas aksiler maupun tunas adventif. Multiplikasi tunas umumnya terdapat dua tahap. Pertama, tunas diinduksi atau dirangsang untuk membentuk tunas-tunas baru pada media induksi tunas. Kedua, tunas-tunas yang berhasil diinduksi disubkultur ke medium elongasi tunas agar tunas-tunas tersebut mengalami pertumbuhan tinggi. Setelah tunas mengalami pertumbuhan tinggi, tunas akan dipotong-potong kembali dan disubkultur ke media induksi tunas. Begitu seterusnya, induksi tunas dan elongasi tunas dilakukan secara berulang-ulang untuk memperbanyak kultur sesuai jumlah yang diinginkan (Sulistiani dan Ahmad, 2012).

d. Pengakaran

Pengakaran adalah fase dimana eksplan menunjukkan adanya pertumbuhan akar, ini menandakan proses kultur jaringan yang dilakukan mulai berjalan dengan baik. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat pertumbuhan dan perkembangan akar serta untuk melihat adanya kontaminasi oleh bakteri ataupun jamur. Eksplan yang terkontaminasi akan menunjukkan gejala seperti berwarna putih atau biru yang disebabkan oleh jamur atau bakteri (Yuliarti, 2010).

e. Aklimatisasi

Aklimatisasi adalah proses mengadaptasikan planlet dari lingkungan *in vitro* ke lingkungan *ex vitro* baik secara fisiologis maupun morfologi. Metode aklimatisasi ini sangat penting, jika tidak dilakukan dengan hati-hati, pemindahan dapat mengakibatkan kerugian karena planlet hasil kultur jaringan mengalami banyak kematian (Sulistiani dan Ahmad, 2012).

4. Faktor-faktor yang mempengaruhi Pembiakan *in vitro*

Faktor yang berpengaruh terhadap teknik kultur jaringan terdiri atas:

a. Media Kultur

Gamborg and Shyluk dalam Triharyanto (2005) menyebutkan bahwa media dasar yang banyak digunakan adalah Murashige dan Skoog (MS). Komposisi garamnya sesuai untuk morfogenesis, kultur meristem dan regenerasi tanaman. Media MS biasanya ditambahkan satu atau lebih vitamin yang berfungsi untuk proses katalis dalam metabolisme eksplan. Vitamin yang biasa digunakan adalah myo-inositol, piridoxin-HCL, asam folat, sianocobacilamin, riboflavin, betin, kolin klorida, kalsium pantetonut, piridoxin fosfat, thiamin-HCL dan nicotinamida. Jenis dan komposisi zat pengatur tumbuh disesuaikan dengan tujuan.

b. Bahan Tanaman (eksplan)

Eksplan adalah bagian tanaman yang dipergunakan sebagai bahan awal untuk perbanyakan tanaman. Faktor eksplan yang penting adalah genotipe/varietas, umur eksplan, letak pada cabang, dan jantan/betina. Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah pucuk muda, batang muda, daun muda, kotiledon, hipokotil, endosperm, ovari muda, anther,

embrio, dll. Faktor yang perlu diperhatikan dalam pemilihan eksplan yaitu ukuran eksplan, sumber eksplan, dan kondisi kesehatan tanaman donor (sebaiknya tidak terinfeksi oleh penyakit). Jenis eksplan akan mempengaruhi morfogenesis kultur *in vitro* (Wattimena, 1992).

c. Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi regenerasi tanaman meliputi temperatur, panjang penyinaran, intensitas penyinaran, kualitas sinar, dan ukuran wadah kultur . Intensitas cahaya yang rendah dapat meningkatkan embriogenesis dan organogenesis. Temperatur yang dibutuhkan untuk pertumbuhan yang optimum umumnya berkisar 20°C-30°C (Wirawan, 2003)

d. Zat Pengatur Tumbuh

Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan. Tanaman memiliki kemampuan merubah zat pengatur tumbuh menjadi lebih aktif atau kurang aktif. Kemampuan metabolisme tanaman sangat tergantung pada genetik tanaman (Wattimena, 1992).

Zat pengatur tumbuh di dalam tanaman terdiri atas lima kelompok (Zulkarnain, 2011), yaitu:

1) Auksin

Auksin adalah senyawa yang berfungsi meningkatkan pemanjangan sel, pembelahan sel, dan pembentukan akar adventif. Auksin menghambat

pembentukan tunas adventif dan tunas aksilar, namun meningkatkan embiogenesis somatik pada kultur suspensi sel. Konsentrasi auksin yang rendah akan meningkatkan pembentukan akar adventif, sedangkan auksin konsentrasi tinggi akan merangsang pembentukan kalus dan menekan morfogenesis.

Auksin yang paling banyak digunakan pada kultur *in vitro* adalah indole-3-acetic acid (IAA), α -naphthalenacetic acid (α -NAA), dan 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Jenis-jenis auksin yang lain adalah 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T), indole-3-butyric acid (IBA), dan *p*-chlorophenoxyacetic acid (4-CPA).

2) Sitokinin

Sitokinin adalah senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Senyawa tersebut meningkatkan pembelahan sel, poliferasi pucuk, morfogenesis pucuk, mengontrol perkecambahan biji, mempengaruhi absisi daun dan transpor auksin, memungkinkan bekerjanya giberelin dengan menghilangkan penghambat tumbuh, serta menunda penuaan. Konsentrasi sitokinin yang terbatas akan menyebabkan pembelahan sel terhambat, sedangkan kandungan sitokinin yang memadai dalam media kultur maka pembelahan sel akan berlangsung secara sinkron. Sitokinin yang paling banyak digunakan adalah kinetin, benziladenin (BA atau BAP), dan zeatin.

3) Giberellin

Kelompok zat pengatur tumbuh ini terdiri atas kira-kira 60 macam senyawa, GA3 merupakan yang paling banyak dijumpai di dalam tanaman. Asam giberelat tidak terlalu sering digunakan dalam kultur jaringan. Senyawa tersebut tidak tahan panas dan tidak dapat diotoklaf. Karena itu, harus ditambahkan ke dalam medium setelah diotoklaf dengan menggunakan filter milipore (sterilisasi filter). Peranan asam giberelat dalam tanaman adalah meningkatkan perkecambahan biji dan menginduksi pemanjangan ruas. Asam giberelat digunakan di dalam media kultur untuk meningkatkan pemanjangan pucuk-pucuk yang sangat kecil dan merangsang pembentukan embrio dari kalus.

4) Asam absisat

Asam absisat (ABA) ditemukan tersebar luas dalam jaringan tanaman dan diduga fungsinya sebagai suatu zat penghambat tumbuh. Senyawa ini jarang digunakan dalam kultur jaringan, namun memiliki aplikasi yang spesifik seperti merangsang perkembangan embrioid dari kalus.

5) Etilen

Etilen adalah zat pengatur tumbuh yang strukturnya sederhana dan berbentuk gas. Senyawa ini umumnya diproduksi oleh tanaman sebagai respon terhadap kelebihan air. Senyawa ini dapat mengakibatkan terhambatnya perkembangan kultur. Meskipun pada beberapa penelitian menyatakan bahwa dapat meningkatkan pertumbuhan kultur jenis tanaman tertentu pada konsentrasi rendah.

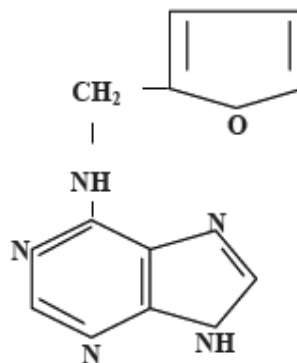
C. Sitokinin dan Kinetin

Sitokinin merupakan senyawa yang mempunyai bentuk dasar adenine (6-amino purin) yang mendukung terjadinya pembelahan sel. Sitokinin yang digunakan secara komersial dalam propagasi *in vitro* adalah bensiladenin (6-benzylaminopurin), kinetin, isopentyladenin (dimetil aminopurin) dan adenin sulfat (Abidin, 1985).

Kinetin merupakan zat pengatur tumbuh yang tergolong ke dalam sitokinin sintetik, dalam penggunaannya dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh lainnya, mempengaruhi proses sitokenesis atau pembelahan sel. Aktivitas ini yang menjadi kriteria utama untuk menggolongkan suatu zat pengatur tumbuh ke dalam sitokinin. Kinetin merupakan hormon golongan sitokinin yang pertama kali ditemukan dan jenis sitokinin alami yang dihasilkan pada jaringan yang tumbuh aktif terutama pada akar, embrio dan buah. Kinetin berfungsi untuk pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis (Wetherell, 1982).

Menurut Zaerr dan Mapes dalam Bonga dan Durzan (1982), Kinetin adalah zat pengatur tumbuh yang paling potensial menginduksi pertumbuhan tunas pada tanaman kehutanan. Konsentrasi yang secara umum digunakan berkisar antara 0,1-10 mg/l.

Gunawan (1995) menggambarkan struktur kimia kinetin (6-*furfurylaminopurine*) adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Rumus Bangun Kinetin (Berat Molekul : 215.22 g/mol)

D. Kontaminasi

Berdasarkan jenis kontaminan kontaminasi terdapat 2 jenis, yaitu kontaminasi bakteri dan kontaminasi cendawan. Kontaminasi bakteri dicirikan dengan adanya cairan putih bening pada media di pangkal eksplan yang akan berubah menjadi putih pekat ataupun berubah warna. Kontaminasi cendawan dicirikan dengan adanya hifa putih yang tumbuh pada botol kultur, baik itu muncul dari media ataupun eksplan. Kondisi media kultur yang lembab dan banyak mengandung nutrisi menyebabkan pertumbuhan cendawan lebih cepat dari pada pertumbuhan eksplannya (Purnawati, 2012).

Kontaminasi secara umum dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu faktor eksplan, faktor manusia, faktor media dan faktor lingkungan. Kontaminasi dari faktor eksplan dicirikan dengan awal muncul sumber kontaminasi berasal dari eksplan. Kontaminasi paling banyak dari kultur jaringan tunas jabon adalah cendawan. Kontaminasi yang muncul dari media juga terkadang bisa terjadi. Kontaminasi dari faktor media disebabkan karena kurang rapatnya penutup botol sehingga mikroba bisa masuk lewat celah penutup botol. Kontaminasi yang berasal

dari media kultur ditandai dengan munculnya cendawan atau bakteri berawal pada media (Kavitha dkk, 2009).

Faktor manusia dan lingkungan juga menjadi penyebab tingat kontaminasi yang cukup tinggi, kurang terampilnya pekerja serta kurang sterilnya peralatan yang dipakai juga bisa mempengaruhi persen kontaminasi pada eksplan. Terdapat hubungan antara jenis kontaminan dengan lingkungan laboratorium, pekerja, dan peralatan yang digunakan. Bakteri dan cendawan yang ditemukan sebagai kontaminan, jenisnya sama dengan bakteri dan cendawan yang ada di udara laboratorium, peralatan laboratorium, kulit pekerja, serta sarung tangan pekerja ketika melakukan penelitian (Odutayo dkk, 2007).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan yaitu mulai bulan Februari sampai Mei 2016 di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin Makassar.

B. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah sebagai berikut:

a. Bahan media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS (Murashige dan Skoog) yang terdiri atas hara makro, hara mikro, larutan vitamin, glukosa, dan dipadatkan dengan agar-agar. Media dimodifikasi dengan penambahan zat pengatur tumbuh kinetin (*6-furfurylaminopurine*) dengan konsentrasi 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, dan 7 ppm.

b. Bahan tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *planlet* jabon merah yang siap untuk disubkultur, sejumlah 20 *planlet*.

c. Bahan lain

Bahan lain yang dibutuhkan adalah alkohol 70%, air, deterjen, plastik wrap, tissu, kertas, dan kertas label.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri, sprayer, pembakar spiritus, korek api, scalpel, pisau, pinset, gunting, labu erlenmeyer, gelas piala, gelas ukur, pipet tetes, pipet mikro, pH-meter, autoclave, neraca analitik, hot plate, pengaduk magnetic, meja kerja steril (*laminar air flow cabinet*), microwave, oven, botol kultur, masker, *handscoon*, mistar, kamera, *tally sheet*, pulpen, dan rak-rak kultur.

C. Prosedur Pelaksanaan.

1. Sterilisasi

Pelaksanaan sterilisasi dilakukan sebagai berikut:

a. Sterilisasi lingkungan kerja

Kebersihan lingkungan kerja dijaga dengan tidak memperkenankan orang yang tidak berkepentingan dengan penelitian masuk ke dalam ruangan serta membersihkan ruangan dengan desinfektan secara rutin. Permukaan tempat kerja selalu dibersihkan sebelum, selama, maupun setelah digunakan. Pembersihan dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70%, kemudian dibersihkan dengan tisu.

b. Sterilisasi alat-alat dan media kultur

Alat-alat yang akan digunakan untuk kultur jaringan setelah dicuci bersih dan dikeringkan, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Alat-alat yang telah disterilisasi disimpan dalam oven. Cawan petri dan alat-alat seperti scalpel, pinset, gunting, terlebih dahulu dibungkus kertas sebelum disterilisasi. Alat-alat yang dipakai pada saat menanam

disterilkan dengan dicelupkan ke dalam alkohol 70%, kemudian dibakar di atas api bunsen. Botol kultur, media tanam dan aquades disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Pembuatan Media

Media dasar yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS) dengan berbagai konsentrasi larutan kinetin. Langkah awal pembuatan media adalah pembuatan larutan stock, yang terdiri atas larutan stok makro, larutan stock mikro, larutan stock vitamin, dan larutan stock Fe-EDTA. Komposisi larutan stock dapat dilihat pada Lampiran 11. Langkah-langkah pembuatan media sebagai berikut:

- a. Menimbang gula sebanyak 30 g/l, dilarutkan dengan aquades steril dalam labu erlenmeyer yang diletakkan di atas *hot plate* dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*
- b. Memasukkan larutan stok makro, mikro, vitamin, Myo-inositol, FeSO_4 dan Na_2EDTA dan menambahkan aquades sampai diperoleh 1 liter media, diaduk terus dengan *magnetic stirrer* diatas *hot plate*
- c. Mengukur pH dengan pH meter (pH standar 5,6 – 6,8) sampai pada pH 6,3.
- d. Memasukkan agar-agar 8 g/l ke dalam larutan sambil terus diaduk, kemudian dimasukkan ke dalam microwave sampai mendidih.
- e. Memindahkan media yang telah mendidih ke *hot plate* dan mengaduknya dengan *magnetic stirrer*.

- f. Menuang media ke dalam labu takar sebanyak 100 ml kemudian ditambahkan zat pengatur tumbuh kinetin dengan berbagai konsentrasi. Media kemudian dituang ke dalam botol yang telah disterilkan sebanyak 20 ml/botol. Pada botol dibubuhkan label sesuai dengan konsentrasi Kinetin yang diberikan dan tanggal pembuatan.
- g. Sterilisasi media dengan autoklaf selama 15 menit.

3. Penanaman

Prosedur penanaman dilakukan sebagai berikut:

- a. Penanaman dilakukan dalam meja kerja steril (*laminar air flow*). Alat dan bahan yang akan digunakan menanam dimasukkan ke dalam *laminar air flow*. Lampu ultraviolet dinyalakan minimal 30 menit sebelum dioperasikan. Dinding dan bidang kerja steril dibersihkan dengan menyemprotkan alkohol 70%
- b. Menyiapkan cawan petri sebagai tempat menyimpan bibit yang telah dikeluarkan dari botol kultur. Cawan petri yang terbungkus kertas dibuka. Pinggir cawan dan seluruh permukaannya bagian dalam dan luar dibakar dengan api spritus. Cawan petri dibiarkan sampai dingin
- c. Membuka penutup botol kultur yang berisi bibit jabon merah. Bibit diambil dengan menggunakan pinset dan diletakkan dalam cawan petri. Bibit dijauhkan dari panas api agar tidak layu atau mati.

- d. Mengukur tinggi total planlet dengan menggunakan mistar. Planlet kemudian dipotong menjadi dua bagian, bagian atas (pucuk) dan bawah. Bagian bawah planlet dibuang akarnya. Kemudian masing-masing diukur tingginya.
- e. Membuka penutup botol kultur yang berisi media dan mengeluarkan air yang ada di dalamnya. Mulut botol disterilkan bagian dalam dan luarnya dengan nyala api spritus.
- f. Penanaman dilakukan dengan menggunakan pinset. Bibit jabon yang telah dipotong menjadi dua masing-masing dibenamkan ujungnya ke dalam media yang sama tetapi dengan botol yang berbeda antara bagian atas dengan bagian bawah. Satu tanaman diulang sebanyak empat kali dengan lima media yang berbeda. Sehingga total jumlah perlakuan sebanyak 40 botol. Selama botol media terbuka harus selalu berdekatan dengan nyala api spritus. Botol segera ditutup kembali dan direkatkan dengan plastik wrap.
- g. Membubuhkan label pada botol hasil inokulasi sesuai perlakuan dan tanggal penanaman.

4. Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap hari selama 3 bulan setelah penanaman.

Parameter yang diamati sebagai berikut:

- a. Waktu terbentuknya daun

Mengamati dan mencatat munculnya daun dinyatakan dalam Hari Setelah Tanam (HST). Penentuan saat muncul daun dalam penelitian ini didasarkan pada daun yang telah membuka sempurna pada setiap eksplan.

b. Waktu terbentuknya akar

Mengamati dan mencatat munculnya akar dinyatakan dalam Hari Setelah Tanam (HST) dengan melihat adanya akar yang sudah mencapai panjang kira-kira 1 mm pada setiap eksplan.

c. Jumlah daun yang muncul

Penghitungan jumlah daun dilakukan pada setiap eksplan dengan menghitung jumlah daun yang terbentuk

d. Jumlah akar yang muncul

Penghitungan jumlah akar dilakukan pada setiap eksplan dengan menghitung jumlah akar yang terbentuk.

e. Tinggi tanaman

Menghitung total pertambahan tinggi tanaman pada hari terakhir pengamatan. Pengukuran tinggi dilakukan dengan mengukur dari pangkal batang sampai pada titik tumbuh tertinggi.

f. Persentase (%) kultur terkontaminasi

$$\%Kontaminasi = \frac{\text{jumlah eksplan yang terkontaminasi}}{\text{jumlah eksplan yang ditanam}} \times 100\%$$

D. Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial dengan menggunakan dua faktor, yaitu:

1. Faktor I adalah media MS dengan zat pengatur tumbuh (m), yaitu:

m0 = kinetin 0 ppm

m1 = kinetin 1 ppm

m2 = kinetin 3 ppm

m3 = kinetin 5 ppm

m4 = kinetin 7 ppm

2. Faktor II adalah tipe eksplan (p), yaitu:

p1 = bagian atas (pucuk) planlet

p2 = bagian bawah planlet

Kombinasi kedua faktor diatas diperoleh 10 kombinasi perlakuan dan masing-masing kombinasi diulang sebanyak 4 kali. Jumlah unit percobaan sebanyak 40 unit. Setiap kombinasi terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan antara Media MS dengan konsentrasi kinetin dan tipe eksplan

Konsentrasi kinetin (m)	Tipe eksplan (p)	
	p1	p2
m0	m0p1	m0p2
m1	m1p1	m1p2
m2	m2p1	m2p2
m3	m3p1	m3p2
m4	m4p1	m4p2

E. Analisis Data

Analisis data menggunakan model linear sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Dimana:

Y_{ijk} = Nilai pengamatan pada faktor perlakuan konsentrasi kinetin taraf ke- i
dan faktor perlakuan tipe eksplan taraf ke- j dan ulangan ke- k

μ = Nilai tengah populasi

α_i = Pengaruh perlakuan konsentrasi kinetin taraf ke- i

β_j = Pengaruh perlakuan tipe eksplan taraf ke- j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = interaksi antara perlakuan konsentrasi kinetin pada media taraf ke i
dengan perlakuan tipe eksplan taraf ke- j

ε_{ij} = Galat percobaan

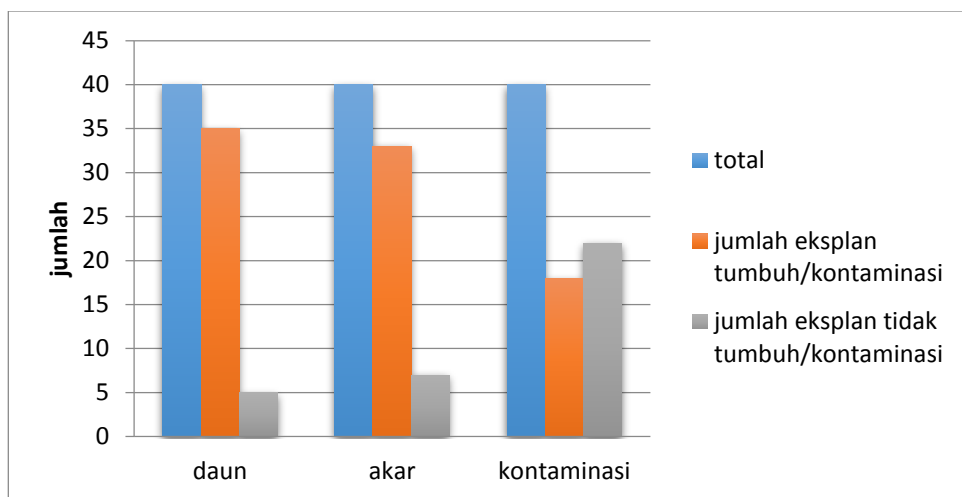
Data pengamatan dianalisis dengan *analysis of variansi* (ANOVA), jika terdapat hasil yang berpengaruh nyata maka dilanjutkan uji lanjut dengan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf 1% dengan bantuan software SPSS.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kondisi Umum

Penelitian pengaruh konsentrasi kinetin dan tipe eksplan terhadap pengembangan jabon merah secara *in vitro* ini berlangsung selama 108 hari. Berdasarkan hasil pengamatan, menunjukkan bahwa penambahan kinetin pada media kultur jaringan jabon merah dengan tingkat konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap beberapa parameter pengamatan. Parameter tersebut terdiri atas waktu terbentuknya daun, waktu terbentuknya akar, jumlah daun, jumlah akar, pertambahan tinggi dan tingkat kontaminasi yang terjadi.



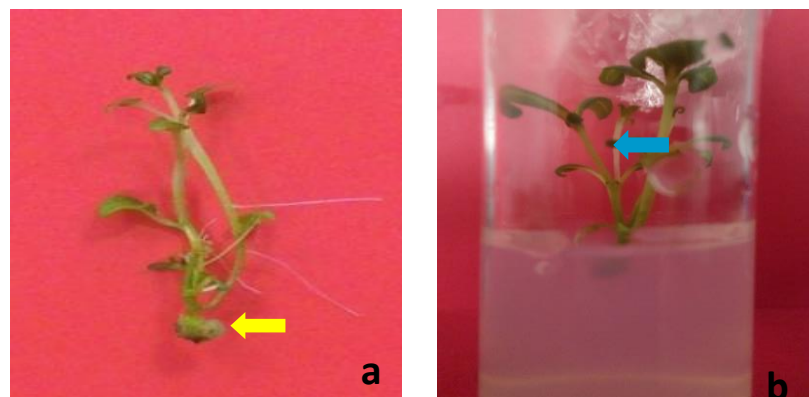
Gambar 2. Gambaran Umum Hasil Penelitian

Pertumbuhan eksplan mulai terlihat sejak minggu pertama pengamatan yang ditandai dengan munculnya daun dan akar secara bersamaan pada sebagian eksplan. Persentase pertumbuhan daun mencapai 87,5% (35 dari 40 eksplan) dari semua perlakuan. Eksplan yang tidak bertambah jumlah daunnya

sebanyak 5 eksplan adalah eksplan yang ditanam pada media tanpa penambahan kinetin (0 ppm). Sedangkan persentase eksplan yang membentuk akar mencapai 82,5% (33 dari 40 eksplan). Dari 40 eksplan terdapat 5 eksplan (3 bagian pangkal dan 2 bagian pucuk) yang tidak bisa bertahan hidup sampai akhir pengamatan. Kelima eksplan tersebut terdapat pada media kinetin 0 ppm.

Jumlah daun dan akar yang tumbuh terus bertambah sampai akhir pengamatan (108 HST). Rata-rata pertambahan jumlah daun dan jumlah akar terbanyak terdapat pada media dengan penambahan kinetin 7 ppm. Eksplan bagian pucuk menunjukkan respon yang lebih baik terhadap pertambahan tinggi dibandingkan eksplan bagian pangkal.

Selama pengamatan terdapat pembentukan kalus dan pertumbuhan cabang (Gambar 3a dan 3b) pada beberapa eksplan. Cabang mulai terlihat pada eksplan di minggu ke-3 pengamatan. Pada minggu ke-4 ditemukan adanya eksplan yang berkalus di sekitar daerah pemotongan



Gambar 3. a. Pembentukan kalus (←) dan b. pertumbuhan cabang pada eksplan jabon (←)

Kondisi lain yang terjadi adalah ditemukan beberapa eksplan yang pucuk daunnya pucat dan menguning (Gambar 4). Hal tersebut karena unsur hara yang terkandung dalam media telah berkurang bahkan habis serta kondisi lingkungan yang kurang mendukung. Selama proses penelitian listrik seringkali padam dalam waktu yang lama sehingga menghambat proses pengamatan dan mempengaruhi pertumbuhan tanaman.



Gambar 4. Eksplan yang pucat dan menguning

B. Waktu Terbentuk Daun

Terbentuknya daun mulai terjadi pada minggu pertama pengamatan di hari ke-6 HST pada beberapa perlakuan. Jumlah daun yang tumbuh semakin bertambah sampai akhir pengamatan. Hasil sidik ragam (Lampiran 1) menunjukkan bahwa penambahan kinetin dengan beragam konsentrasi pada media kultur, tipe eksplan dan interaksi antara keduanya berpengaruh tidak nyata terhadap waktu terbentuknya daun. Sehingga tidak dilakukan uji lanjut.

Tabel 2. Rata-Rata Waktu Terbentuk Daun Pertama Kultur Jabon Merah

Konsentrasi kinetin (ppm)	Tipe eksplan	Waktu muncul daun (HST)
m0	p1	4,75
m1	p1	7,00
m2	p1	6,50
m3	p1	15,00
m4	p1	6,25
m0	p2	4,75
m1	p2	13,75
m2	p2	15,50
m3	p2	13,00
m4	p2	8,250

Keterangan : m0 : kinetin 0 ppm, m1 : kinetin 1 ppm, m2 : kinetin 3 ppm, m3 : kinetin 5 ppm, m4 : kinetin 7 ppm, p1: bagian pucuk, p2: bagian pangkal

Tabel rekapitulasi rata-rata waktu terbentuk daun pertama kultur jabon merah (Tabel 2) menunjukkan bahwa rata-rata waktu terbentuk daun yang tidak dipengaruhi oleh penambahan kinetin dan tipe eksplan. Terlihat dari nilai rata-rata waktu terbentuk paling cepat (4.75 HST) diperoleh pada media tanpa penambahan kinetin (0 ppm) yang terdapat pada bagian pucuk dan bagian pangkal eksplan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Dahnili (2004), juga diperoleh hasil bahwa penambahan kinetin dan kombinasinya tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan daun pada kultur *in vitro* *Azadirachta excels* (Jack) M. Jacobs atau Sentang.

Hal ini diduga terjadi karena kemampuan genetik eksplan terhadap respon zat pengatur tumbuh berbeda-beda. Kemampuan metabolisme tanaman sangat tergantung pada kemampuan genetik tanaman (faktor endogen). Ada beberapa tanaman yang tidak akan berespon terhadap zat pengatur tumbuh yang diberikan (faktor eksogen). Selain itu pertumbuhan juga dipengaruhi oleh keseimbangan antara interaksi faktor endogen dan eksogen (Hidayat, 2009).

C. Waktu Terbentuk Akar

Terbentuknya akar mulai terjadi pada minggu pertama pengamatan di hari ke-6 HST pada beberapa perlakuan. Jumlah akar yang tumbuh semakin bertambah sampai akhir pengamatan. Hasil sidik ragam (Lampiran 2) menunjukkan bahwa penambahan kinetin dengan beragam konsentrasi pada media kultur berpengaruh nyata terhadap waktu terbentuknya akar. Sehingga perlu diadakan uji lanjut untuk mendapat nilai beda nyata (Tabel 3). Sedangkan tipe eksplan dan interaksi antara kinetin dan tipe eksplan menunjukkan pengaruh yang berbeda tidak nyata. Sehingga tidak diadakan uji lanjut.

Tabel 3. Hasil uji Duncan waktu terbentuk akar pada pengaruh konsentrasi kinetin dan tipe eksplan jabon merah

Perlakuan	Nilai Tengah (x)	Uji Duncan ($\alpha=1\%$)
m0	11,80	a
m1	23,00	ab
m2	42,25	ab
m3	53,37	b
m4	21,00	ab

Keterangan : huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda nyata. m0 : kinetin 0 ppm, m1 : kinetin 1 ppm, m2 : kinetin 3 ppm, m3 : kinetin 5 ppm, m4 : kinetin 7 ppm

Hasil uji Duncan menunjukkan media kinetin 5 ppm dan media kinetin 0 ppm memberikan pengaruh yang berbeda terhadap waktu terbentuknya akar (Tabel 3). Media kinetin 5 ppm memiliki nilai rata-rata tertinggi yang berarti memiliki respon yang paling lambat terhadap pembentukan akar (53.37 HST). Sedangkan media kinetin 0 ppm dengan nilai tengah 11,8 HST adalah media dengan rata-rata waktu terbentuk akar yang paling cepat.

Hal tersebut menunjukkan bahwa kinetin tidak mempengaruhi atau merangsang pertumbuhan akar. Karena pada media kinetin 0 ppm eksplan bisa

membentuk akar bahkan lebih cepat. Hal ini diduga karena kinetin merupakan zat pengatur tumbuh golongan sitokinin yang umumnya memiliki efek organogenesis penginduksian pertumbuhan tunas, sehingga respon pertumbuhan akar tidak dipengaruhi. Akar yang tumbuh pada eksplan diduga berasal dari zat pengatur tumbuh endogen, sehingga meskipun tidak ditambahkan zat pengatur tumbuh eksogen, zat pengatur tumbuh endogen masih mampu menginduksi pertumbuhan akar (Muswita,2008).

Tabel 4. Rata-Rata Waktu Muncul Akar Pertama Kultur Jabon Merah

Konsentrasi kinetin (ppm)	Tipe eksplan	Waktu muncul akar (HST)
m0	p1	11,25
m1	p1	38,00
m2	p1	38,50
m3	p1	68,75
m4	p1	35,75
m0	p2	12,50
m1	p2	8,00
m2	p2	46,00
m3	p2	38,00
m4	p2	6,25

Keterangan : m0 : kinetin 0 ppm, m1 : kinetin 1 ppm, m2 : kinetin 3 ppm, m3 : kinetin 5 ppm, m4 : kinetin 7 ppm, p1: bagian pucuk, p2: bagian pangkal

Tabel rekapitulasi (Tabel 4) menunjukkan bahwa waktu terbentuk akar paling cepat terdapat pada kombinasi perlakuan m4p2 (interaksi antara media kinetin 7 ppm dengan bagian pangkal) yaitu 6.25 HST. Sedangkan waktu terbentuk akar yang paling lambat terdapat pada kombinasi perlakuan m3p1 (interaksi antara media kinetin 5 ppm dengan bagian pucuk) sebesar 68,75 HST. Pertumbuhan akar terjadi hampir di semua eksplan meskipun tidak ditambahkan auksin ke dalam media. Hal ini menunjukkan adanya auksin endogen yang cukup tinggi di dalam eksplan. Eksplan yang digunakan adalah

eksplan hasil dari subkultur yang dipotong menjadi dua bagian. Sehingga diduga bagian pangkal lebih dahulu membentuk akar karena mengandung auksin yang lebih banyak dibandingkan dengan bagian pucuk. Bagian pucuk lebih banyak mengandung jaringan meristem apikal sehingga pertumbuhannya lebih besar mengarah pada pertumbuhan pucuk dan tinggi tanaman.

D. Jumlah Daun

Hasil sidik ragam (Lampiran 3) menunjukkan bahwa konsentrasi kinetin berpengaruh nyata, sedangkan tipe eksplan memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah daun. Uji Duncan selanjutnya dilakukan untuk mendapatkan nilai beda nyata (Tabel 5). Interaksi antara konsentrasi kinetin dengan tipe eksplan menunjukkan pengaruh yang berbeda tidak nyata. Sehingga tidak diadakan uji lanjut.

Tabel 5. Hasil Uji Duncan Jumlah Daun pada Pengaruh Konsentrasi Kinetin dan Jabon Merah

Perlakuan	Nilai Tengah (x)	Uji Duncan ($\alpha = 1\%$)
Konsentrasi kinetin		
m0	6.88	b
m1	20.25	ab
m2	15.50	ab
m3	21.50	a
m4	24.25	a

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda sangat nyata.

m0 : kinetin 0 ppm, m1 : kinetin 1 ppm,
m2 : kinetin 3 ppm, m3 : kinetin 5 ppm, m4 : kinetin 7 ppm.

Hasil uji lanjut Duncan (Tabel 5) menunjukkan media kinetin 7 ppm dengan nilai tengah yang paling tinggi sebesar 24,25 helai memberikan pengaruh terbaik terhadap penambahan jumlah daun. Kondisi tersebut diduga disebabkan konsentrasi zat pengatur tumbuh kinetin yang ditambahkan telah tepat. Hal tersebut sesuai dengan teori yang menyebutkan bahwa peran zat

pengatur tumbuh sitokinin dalam kegiatan kultur jaringan dapat menstimulir terjadinya pembelahan sel, proliferasi kalus, pembentukan tunas, mendorong proliferasi meristem ujung, menghambat pembentukan akar dan mendorong pembentukan klorofil pada kalus (Santoso dan Nursandi, 2003). Zat pengatur tumbuh golongan sitokinin pada konsentrasi yang tinggi dapat mendorong pembentukan tunas adventif dan tunas aksilar (lateral) dan mengurangi pengaruh dominansi apikal (Dahnil, 2004). Jika dibandingkan dengan media kinetin 5 ppm yang juga menunjukkan nilai tengah (21,5) yang berbeda, bisa ditarik kesimpulan bahwa untuk pembiakan *in vitro* jabon merah lebih baik menggunakan konsentrasi 5 ppm dengan mempertimbangkan segi efektifitas dan biaya pengadaan hormon kinetin.

Penelitian yang dilakukan oleh Dewi dan Dyah (2010) juga menunjukkan bahwa pemberian kinetin konsentrasi 1,5 ppm dan 2 ppm memberikan pengaruh terbaik terhadap jumlah tunas yang muncul pada perbanyakan tanaman jarak pagar secara *in vitro*. Primawati (2006) juga membuktikan bahwa kinetin dan kombinasinya memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap pertambahan jumlah daun pada perbanyakan cendana secara *in vitro*.

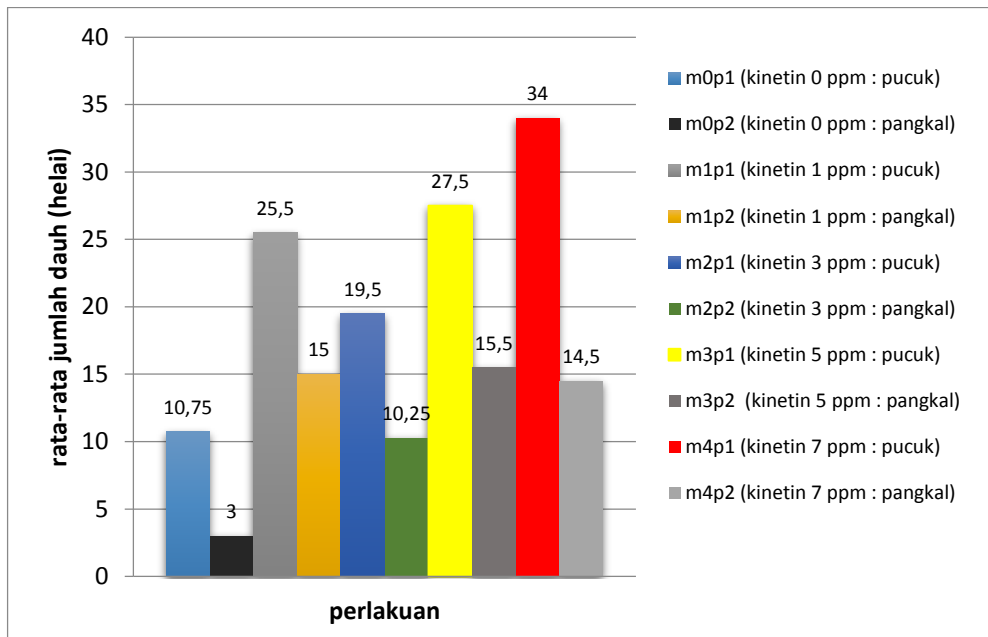
Tabel 6. Hasil Uji Duncan Jumlah Daun pada Pengaruh Tipe Eksplan Jabon Merah

Perlakuan	Nilai Tengah (x)	Uji Duncan ($\alpha = 1\%$)
Tipe eksplan		
p1	23.45	a
p2	11.90	b

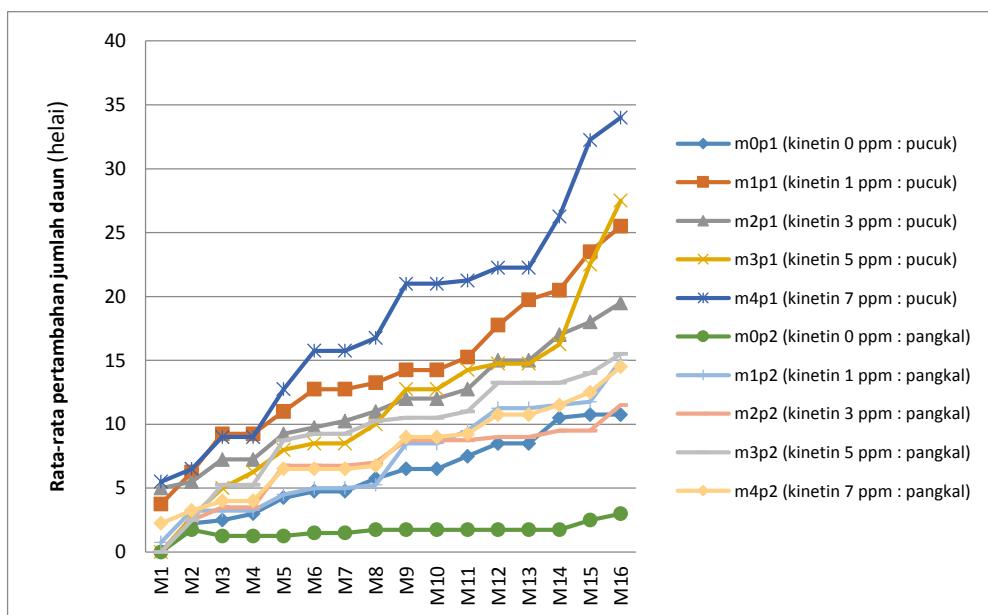
Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda sangat nyata.
p1: bagian pucuk, p2: bagian pangkal

Hasil uji lanjut Duncan terhadap tipe eksplan menunjukkan bagian pucuk dengan nilai tengah 23,45 helai memberikan pengaruh terbaik terhadap pertambahan jumlah daun. Pucuk merupakan eksplan yang paling baik digunakan untuk perbanyakan tanaman (Suyadi dan Teguh, 2009). Karena pada bagian pucuk lebih banyak terjadi aktifitas pembelahan dan pembentukan sel-sel baru. Pada penelitian yang dilakukan Irawati (2000) diperoleh hasil bahwa eksplan bagian pucuk lebih banyak menghasilkan planlet pada pembiakan *in vitro Philodendron goeldii* (Araceae).

Gambar 5 menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan m4p1 (media kinetin 7 ppm dengan bagian pucuk) memiliki rata-rata jumlah daun yang paling banyak dibandingkan dengan kombinasi perlakuan yang lain, sebesar 34 helai daun. Sitokinin dalam konsentrasi yang tinggi mampu merangsang pembentukan daun yang lebih banyak pada bagian pucuk. Zat pengatur tumbuhnya mampu berinteraksi baik dengan pembelahan sel di bagian pucuk. Sedangkan kombinasi perlakuan m0p2 (media kinetin 0 ppm dengan bagian pangkal) menunjukkan rata-rata yang paling rendah sebesar 3 helai daun.



Gambar 5. Rata-Rata Jumlah Daun pada Setiap Kombinasi Perlakuan



Gambar 6. Grafik Rata-Rata Pertambahan Jumlah Daun Tiap Pekan

Gambar 6 menunjukkan grafik rata-rata pertambahan jumlah daun dari pekan pertama sampai pekan terakhir pengamatan selama 108 hari. Kombinasi perlakuan m0p2 (media kinetin 0 ppm dan bagian pangkal kecambah),

pertumbuhannya mengalami stagnan selama beberapa pekan. Kombinasi perlakuan ini juga yang memiliki rata-rata jumlah daun yang paling rendah. Kondisi stagnan tersebut diduga karena respon tanaman yang kurang bagus dan terjadi kejenuhan (Primawati, 2006).

E. Jumlah Akar

Hasil sidik ragam (Lampiran 4) menunjukkan bahwa konsentrasi kinetin dan tipe eksplan berpengaruh sangat nyata terhadap pertambahan jumlah akar. Interaksi antara konsentrasi kinetin dengan tipe eksplan juga menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut. Uji Duncan selanjutnya dilakukan untuk mendapatkan nilai beda nyata.

Tabel 7. Hasil Uji Duncan Jumlah Akar pada Konsentrasi Kinetin yang Beragam

Perlakuan	Nilai tengah (x)	Uji Duncan ($\alpha = 1\%$)
Konsentrasi kinetin		
m0	1.63	b
m1	6.88	b
m2	6.13	b
m3	6.75	b
m4	16.38	a

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda sangat nyata. m0 : kinetin 0 ppm, m1 : kinetin 1 ppm, m2 : kinetin 3 ppm, m3 : kinetin 5 ppm, m4 : kinetin 7 ppm.

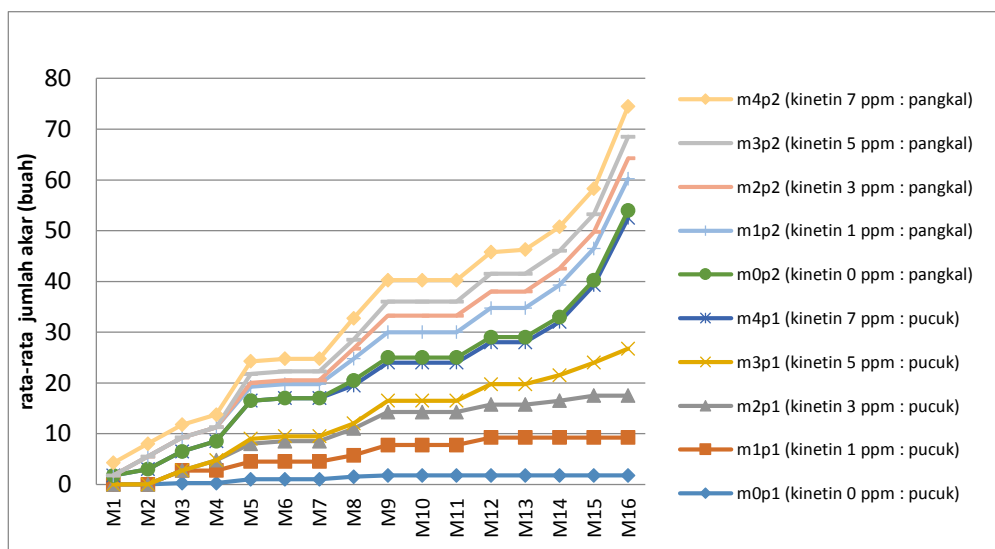
Tabel 8. Hasil Uji Duncan Jumlah Akar pada Tipe Eksplan yang Beragam

Perlakuan	Nilai tengah (x)	Uji Duncan ($\alpha = 1\%$)
Tipe eksplan		
p1	10.5	a
p2	4.6	b

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda sangat nyata. p1: bagian pucuk, p2: bagian pangkal

Hasil uji lanjut Duncan (Tabel 7) menunjukkan media kinetin 7 ppm dengan nilai tengah tertinggi sebesar 16,38 buah dan tipe eksplan bagian pucuk (Tabel 8) dengan nilai tengah 10,5 buah memberikan pengaruh terbaik terhadap jumlah akar. Media kinetin sebesar 7 ppm memberikan pengaruh nilai rata-rata jumlah akar terbesar. Dalam kasus ini penambahan kinetin justru memberikan pengaruh positif pada pertambahan akar. Pierik (1987) menyatakan bahwa kinetin merupakan salah satu dari jenis sitokinin yang akan mendorong pembentukan akar jika diberikan dalam konsentrasi yang tinggi.

Penelitian yang dilakukan oleh Mahadi, dkk (2013) diperoleh bahwa media dengan kombinasi kinetin yang lebih tinggi konsentrasinya (4 ppm) dibandingkan zat pengatur tumbuh yang lain mampu menginduksi akar dengan jumlah yang tertinggi pada kultur *in vitro* buah naga. Debi (2004) kembali membuktikan bahwa kinetin 1 μM menstimulasi elongasi sel-sel akar padi.



Gambar 7. Grafik Rata-Rata Pertambahan Jumlah Akar Tiap Pekan

Gambar 7 menunjukkan grafik rata-rata pertambahan jumlah akar dari pekan pertama sampai pekan terakhir pengamatan. Kombinasi perlakuan m0p1 (media kinetin 0 ppm dengan bagian pucuk), pertumbuhannya mengalami stagnan. Sedangkan kombinasi perlakuan m4p2 (media kinetin 7 ppm dengan bagian pangkal), pertumbuhannya terus mengalami kenaikan sampai akhir pengamatan.

F. Tinggi Tanaman

Pengukuran pertambahan tinggi tanaman pada penelitian ini hanya dilakukan sebanyak dua kali, yaitu diawal penanaman dan di akhir dari pengamatan. Pengukuran tinggi tidak dilakukan selama proses pengamatan karena kondisi yang tidak memungkinkan untuk mengambil data tinggi. Terdapat bias ketika pengukuran dilakukan diluar botol kultur. Selain itu banyak tanaman yang posisinya miring, sehingga menyulitkan untuk dilakukan pengukuran.

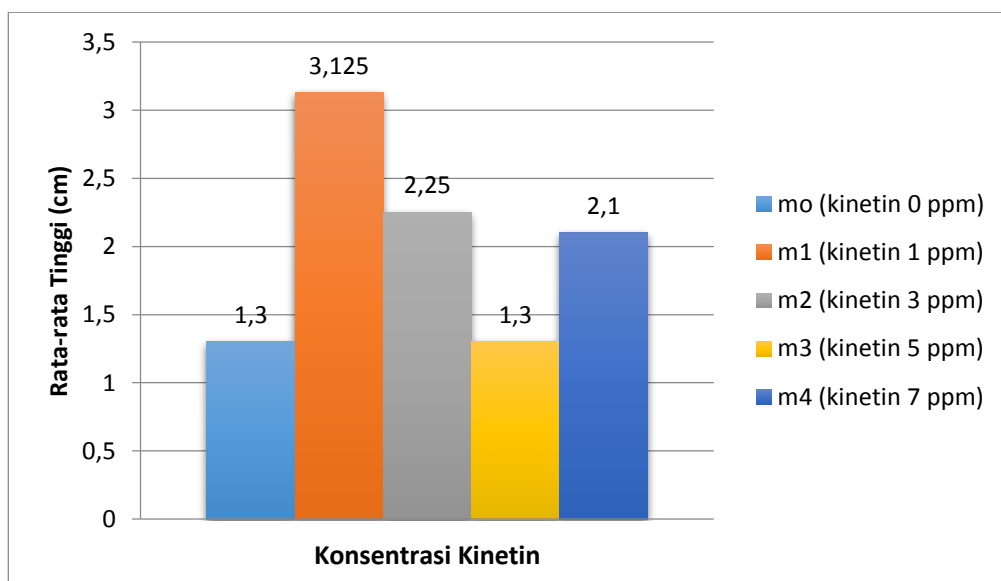
Hasil sidik ragam (Lampiran 5) menunjukkan bahwa konsentrasi kinetin dan interaksi antara konsentrasi kinetin dengan tipe eksplan berbeda tidak nyata terhadap pertambahan tinggi eksplan. Sehingga tidak dilakukan uji lanjut. Sedangkan tipe eksplan berpengaruh sangat nyata terhadap pertambahan tinggi tanaman. Sehingga perlu dilakukan uji Duncan terhadap tipe eksplan untuk memperoleh nilai beda nyata (Tabel 9).

Tabel 9. Hasil Uji Duncan Tinggi Eksplan pada Tipe Eksplan yang Berbeda

Perlakuan	Nilai tengah (\bar{x})	Uji Duncan ($\alpha = 1\%$)
Tipe eksplan		
p1 (bagian pucuk)	1.66	a
p2 (bagian pangkal)	0.35	b

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda sangat nyata. p1: bagian pucuk, p2: bagian pangkal

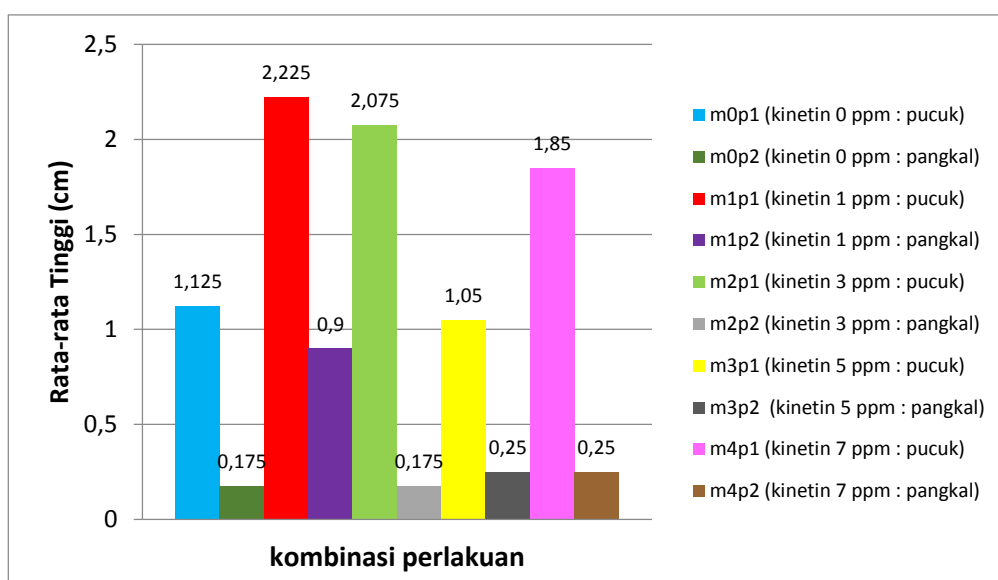
Hasil uji Duncan (Tabel 9) menunjukkan tipe eksplan bagian pucuk dengan nilai rata-rata tinggi yang paling tinggi sebesar 1,66 cm memberikan pengaruh terbaik terhadap penambahan tinggi tanaman. Menurut Wirawan (2003) eksplan yang berasal dari tanaman yang masih muda memiliki daya regenerasi yang lebih tinggi. Sehingga pembelahan sel dan penambahan tinggi lebih banyak terjadi pada bagian tersebut.



Gambar 8. Rata-rata Tinggi Tanaman pada Media dengan Penambahan berbagai Konsentrasi Kinetin

Gambar 8 menunjukkan media kinetin 1 ppm memiliki rata-rata pertambahan tinggi eksplan yang lebih besar dibandingkan dengan media yang lainnya (3,125 cm). Sedangkan rata-rata pertambahan tinggi eksplan yang

paling rendah (1,3 cm) adalah media kinetin 0 ppm dan media kinetin 5 ppm. Eksplan menunjukkan respon yang berbeda-beda terhadap penambahan kinetin. Penambahan kinetin 1 ppm menunjukkan respon yang paling bagus. Diduga konsentrasi ini yang paling tepat untuk menginduksi pertumbuhan tinggi kultur jabon merah. Penelitian yang dilakukan oleh Esti, dkk (2014) juga diperoleh hasil bahwa penambahan kinetin konsentrasi rendah berpengaruh nyata terhadap pemanjangan tunas merbau.



Gambar 9. Rata-rata Tinggi Tanaman pada masing-masing Kombinasi Perlakuan

Gambar 9 menunjukkan bahwa kombinasi media kinetin konsentrasi 1 ppm dengan tipe eksplan bagian pucuk (m1p1) memiliki rata-rata pertumbuhan tinggi yang lebih besar dibandingkan dengan kombinasi yang lain. Dari gambar juga dapat disimpulkan bahwa respon tanaman bagian pucuk terhadap pertumbuhan tinggi lebih besar dibandingkan bagian pangkal. Hal ini terjadi karena bagian pucuk tanaman masih banyak mengandung jaringan meristem apikal yang merangsang pertumbuhan tinggi tanaman.

G. Kontaminasi

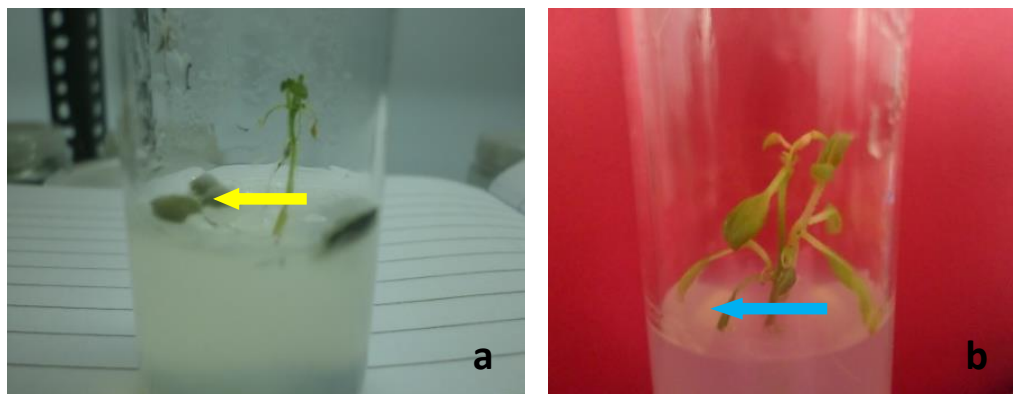
Kontaminasi adalah masalah utama yang sering muncul pada kultur jaringan. Kontaminasi secara umum ada dua, yaitu kontaminasi bakteri dan cendawan. Penyebab terjadinya kontaminasi pun sangat beragam, mulai dari proses sterilisasi, peralatan yang digunakan, jenis eksplan, tahapan dan cara kerja, dan sebagainya.

Dari hasil pengamatan (Tabel 10) menunjukkan bahwa tingkat kontaminasi yang terjadi cukup tinggi, yaitu 45% yang terdiri dari 42,5% kontaminasi bakteri dan 2,5% kontaminasi cendawan. Kontaminasi bakteri diduga terjadi karena peralatan yang digunakan tidak steril. Kontaminasi cendawan muncul pada hari ke-84 HST. Kontaminasi cendawan hanya muncul di satu eksplan saja. Diduga terjadi karena kondisi lingkungan yang tidak mendukung, karena kontaminasi muncul tepat setelah listrik di ruang kultur padam kurang lebih selama sepekan. Sehingga suhu ruangan dan pencahayaannya tidak mendukung. Faktor manusia dan lingkungan menjadi salah satu faktor penyebab terjadinya kontaminasi yang tinggi (Purnawati, 2012)

Tabel 10. Rekapitulasi Kontaminasi pada setiap Kombinasi Perlakuan

Perlakuan		Jenis kontaminasi	
		Bakteri (%)	Cendawan (%)
m0	p1	5	0
	p2	10	0
	subtotal	15	0
m1	p1	0	0
	p2	7,5	0
	subtotal	7.5	0
m2	p1	0	0
	p2	2,5	2,5
	subtotal	2,5	2.5
m2	p1	2,5	0
	p2	7,5	0
	subtotal	10	0
m4	p1	0	0
	p2	7,5	0
	subtotal	7,5	0
total		42,5%	2,5%

Keterangan: m0 : kinetin 0 ppm, m1 : kinetin 1 ppm, m2 : kinetin 3 ppm, m3 : kinetin 5 ppm, m4 : kinetin 7 ppm, p1: bagian pucuk, p2: bagian pangkal



Gambar 10. a. Kontaminasi Cendawan (←) dan b. Kontaminasi Bakteri (←)

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Konsentrasi kinetin 7 ppm merupakan konsentrasi terbaik untuk menginduksi daun dan akar pada pembiakan *in vitro* jabon merah.
2. Eksplan bagian pucuk merupakan tipe eksplan terbaik yang digunakan pada pembiakan *in vitro* jabon merah.
3. Interaksi antara konsentrasi kinetin dan tipe eksplan memberikan pengaruh nyata pada jumlah akar eksplan pada pembiakan *in vitro* jabon merah. Interaksi antara kinetin 7 ppm dengan tipe eksplan bagian pucuk memberikan pengaruh terbesar terhadap pertambahan jumlah akar.
4. Zat pengatur tumbuh kinetin mampu menginduksi pertumbuhan kalus dan cabang pada eksplan jabon merah.

B. Saran

1. Pada pembiakan *in vitro* jabon merah sebaiknya digunakan kinetin 5 ppm untuk menginduksi daun dengan mempertimbangkan efektifitas hormon dan biayanya.
2. Sebaiknya diadakan penelitian lanjutan terkait pengaruh kinetin dalam konsentrasi yang tinggi terhadap pembiakan *in vitro* jabon merah, khususnya pada pembentukan kalus dan akar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 1985. Dasar-dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh. Bandung: Angkasa.
- Bonga JM, dan Durzan DJ. 1982. Tissue Culture In Forestry. Boston: Martinus Nijhoff Publishers.
- Dahnil, M.S. 2004. Studi tentang Pemberian Hormon BAP dan Kinetin terhadap Pertumbuhan Tunas *Azadirachta excelsa* (Jack) M. Jacobs. Skripsi Mahasiswa Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Debi, BR. 2004. Cytokinin inhibits lateral root initiation but stimulates lateral root elongation in rice (*Oryza sativa*). *J. Plant Physiol.* 162:507-5015.
- Dephut RI. 2005. Atlas Kayu Indonesia Jilid II. Bogor: Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan.
- Dewi, P.S., dan Dyah, S. 2010. Pengaruh Kinetin Terhadap Inisiasi dan Pertumbuhan Tunas pada Perbanyakan Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.) Secara *In Vitro*. *Jurnal Agrin* volume 14 nomor 1 halaman 29-36.
- Esti, L.R.P.A., Arief Husin, dan Sisunandar. 2014. Kemajuan Penelitian Induksi dan Pemanjangan Tunas Merbau (*Intsia Bijuga* [Colebr.] O. Kuntze) secara *In Vitro*. *Jurnal FKIP UNS* volume 11 nomor 1 halaman 110-113.
- Gunawan, L.W. 1995. Teknik Kultur *in vitro* dalam Hortikultura. Jakarta: PT. Penebar Swadaya.
- Halawane J.E, Hidayah H.N, dan Kinho J. 2011. Prospek Pengembangan Jabon Merah (*Anthocephalus macrophyllus* Roxb. Havil) Solusi Kebutuhan Kayu Masa Depan. Manado: Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan.
- Hendaryono, D.P.S, dan Wijayani, A. 1994. Teknik Kultur Jaringan. Yogyakarta: Kanisius.
- Hidayat, O. 2009. Kajian Penggunaan Hormon IBA, BAP dan Kinetin Terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Penghasil Gaharu (*Gyrinops Versteegii* (Gilg) Domke) Secara *In Vitro*. Skripsi Mahasiswa Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Irawati. 2000. Diferensiasi berbagai macam Eksplan pada Perbanyakan *Philodendron goeldii* (Araceae) secara *In-Vitro*. *Berita Biologi* Volume 5 Nomor 1 halaman 69-75.

- Kavitha M, Kalaimagal I, Sangeetha N, Ganesh D. 2009. In vitro plant regeneration from apical bud and nodal segments of *Anthocephalus cadamba*-an important sacred and medicinal tree. *Journal of Forest Science* 25(2):111–118.
- Mahadi I, Sri W, dan Delfi T. 2013. Pengaruh Pemberian NAA dan Kinetin terhadap Pertumbuhan Eksplan Buah Naga (*Hylocereus Costaricensis*) melalui Teknik Kultur Jaringan Secara *In Vitro*. Jurnal *Biogenesis* Volume 9 Nomor 2 halaman 14-20.
- Mansur, I, dan Danu, FT. 2010. Kayu Jabon. Depok: Penebar Swadaya.
- Mulyana D, Asmarahman C, Rahmi I. 2011. Panduan Lengkap Bisnis dan Bertanam Kayu Jabon. Jakarta: Agromedia.
- Muswita. 2008. Respons Pertumbuhan Kotiledon Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) terhadap Pertambahan IAA dan Kinetin pada Medium MS. Jurnal *Biospecies* Volume 1 no. 2, halaman 55-58.
- Odutayo O.I, Amusa NA, Okutade OO, Ogunsanwo YR. 2007. Determination of the sources of microbial contaminants of cultured plant tissue. *Plant Pathology Journal* 6(1): 77–81.
- Pratiwi, I. 2009. Penggunaan Komposisi Media Dasar dan Kinetin untuk Induksi Organogenesis Anthurium Gelombang Cinta (*Anthurium plowmanii*) secara *in vitro*. Skripsi Mahasiswa Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Primawati, E. 2006. Perbanyak Cendana (*Santalum album* Linn.) secara Kultur *In-Vitro* dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin (Bap dan Kinetin). Skripsi Mahasiswa Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Purnawati, L. 2012. Sterilisasi Tunas Jabon untuk Mendapatkan Eksplan Steril secara *In Vitro*. Skripsi Mahasiswa Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Rismawati, 2011. Informasi Singkat Benih: *Anthocephalus macrophyllus* Roxb. Havil. Makassar: BPTH Sulawesi.
- Riyadi, I. 2010. Pengaruh Kinetin dan BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Embrio Somatik Tanaman Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.). Jurnal *AgroBiogen* Volume 6 (2):101-106.
- Santoso, U dan Nursandi, F. 2003. Kultur Jaringan Tanaman. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.

- Sulistiani, E dan Ahmad, Y.S. 2012. Produksi Bibit Tanaman dengan menggunakan Teknik Kultur Jaringan. Bogor: Seameo biotrop (southeast asian centre for tropical biology).
- Suyadi, A. dan Teguh, J. 2009. Mikropropagasi Duku (*Lansium domesticum* L.,cv. Kalikajar) melalui Kultur Pucuk. Jurnal *Agritech*, Volume XI Nomor 1 halaman 33 – 44.
- Triharyanto, A. 2005. Multiplikasi Tunas Tanaman Gaharu (*Aquilaria malaccensis* lamk) Secara *In Vitro*. Skripsi Mahasiswa Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Wattimena, G.A. 1992. Bioteknologi Tanaman. Bogor: PAU Bioteknologi IPB.
- Wetherell, D.F. 1982. Pengantar propagasi tanaman secara *in vitro*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Wirawan, D. 2003. Pengaruh Konsentrasi BAP (6-*Benzylaminopurin*) terhadap Pertumbuhan (Kultur *in vitro*) Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff. Boerl.) Skripsi Mahasiswa Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Yuliarti, N. 2010. Kultur Jaringan Tanaman Skala Rumah Tangga. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Zulkarnain. 2011. Kultur Jaringan Tanaman. Jakarta: Bumi Aksara.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Sidik Ragam Waktu Terbentuknya Daun

Waktu terbentuk daun	db	JK	KT	F.Hit	Sig.
Perlakuan					
Konsentrasi kinetin	4	407.100	101.775	2.503	0.063
Tipe eksplan	1	99.225	99.225	2.440	0.129
Konsentrasi kinetin*tipe eksplan	4	169.900	42.475	1.045	0.401
Galat	30	1219.750	40.658		
Total	40	5487.000			

Ket: sig. $\alpha > 5\%$: berbeda tidak nyata

Lampiran 2. Hasil Sidik Ragam Waktu Terbentuk Akar

Waktu terbentuk akar	db	JK	KT	F.Hit	Sig.
Perlakuan					
Konsentrasi kinetin	4	9236.150	2309.037	3.536	0.018
Tipe eksplan	1	2656.900	2656.900	4.068	0.053
Konsentrasi Kinetin*tipe eksplan	4	2890.350	722.588	1.106	0.372
Galat	30	19593.000	653.100		
Total	40	71100.000			

Keterangan : sig: $1\% < \alpha < 5\%$: berbeda nyata, sig: $\alpha > 5\%$: berbeda tidak nyata

Lampiran 3. Hasil Sidik Ragam Pengaruh Konsentrasi Kinetin dan Tipe Eksplan terhadap Pertambahan Jumlah Daun Jabon

Jumlah daun	db	JK	KT	F.Hit	Sig.
Perlakuan					
Konsentrasi kinetin	4	1486.900	371.725	3.915	0.011
Tipe eksplan	1	1334.025	1334.025	14.049	0.001
Konsentrasi kinetin*tipe eksplan	4	183.100	45.775	.482	0.749
Galat	30	2848.750	94.958		
Total	40	18349.00			

Keterangan : sig $\alpha < 1\%$: berbeda sangat nyata, $1\% < \alpha < 5\%$: berbeda nyata, sig $\alpha > 5\%$: berbeda tidak nyata

Lampiran 4. Hasil Sidik Ragam Pengaruh Konsentrasi Kinetin dan Tipe Eksplan terhadap Pertambahan Jumlah Akar Jabon

Jumlah akar	db	JK	KT	F.Hit	Sig.
Perlakuan					
Konsentrasi kinetin	4	928.900	232.225	8.409	0.000
Tipe eksplan	1	348.100	348.100	12.605	0.001
Konsentrasi kinetin*tipe eksplan	4	444.400	111.100	4.023	0.010
galat	30	828.500	27.617		
total	40	4830.000			

Keterangan : sig $\alpha < 1\%$: berbeda sangat nyata, $1\% < \alpha < 5\%$: berbeda nyata

Lampiran 5. Hasil Analisis Sidik Ragam Pengaruh Konsentrasi Kinetin dan Tipe Eksplan terhadap Tinggi Tanaman

Tinggi tanaman	db	JK	KT	F.Hit	Sig.
Perlakuan					
Konsentrasi kinetin	4	4.634	1.159	1.716	0.173
Tipe eksplan	1	17.292	17.292	25.609	0.000
Konsentrasi kinetin*tipe eksplan	4	1.644	.411	.609	0.660
Galat	30	20.258	.675		
Total	40	84.430			

Keterangan : sig. $\alpha < 1\%$: berbeda sangat nyata, $\alpha > 5\%$: berbeda tidak nyata

Lampiran 6. Data Pengamatan Waktu Terbentuknya Daun Pertama (HST)

Tipe eksplan	Media	mo	m1	m2	m3	m4
	Ulangan					
p1	1	-	6	6	25	6
	2	-	6	7	11	6
	3	11	6	6	16	6
	4	8	10	7	8	7
Rata-rata		4,75	7	6,5	15	6,25
p2	1	8	11	34	8	12
	2	-	8	8	15	7
	3	11	29	12	17	7
	4	-	7	8	12	7
Rata-rata		4,75	13,75	15,5	13	8,25

Keterangan : m0 : kinetin 0 ppm, m1 : kinetin 1 ppm, m2 : kinetin 3 ppm, m3 : kinetin 5 ppm, m4 : kinetin 7 ppm, p1: pucuk, p2: pangkal

Lampiran 7. Data Pengamatan Waktu Terbentuknya Akar Pertama (HST)

Tipe eksplan	Media	mo	m1	m2	m3	m4
	Ulangan					
p1	1	-	60	34	97	34
	2	-	16	34	84	6
	3	16	16	60	60	97
	4	29	60	26	34	6
Rata-rata		11,25	38	38,5	68,75	35,75
p2	1	50	16	-	29	6
	2	-	-	29	34	6
	3	-	8	50	29	6
	4	-	8	105	60	7
Rata-rata		12,5	8	46	38	6,25

Keterangan : m0 : kinetin 0 ppm, m1 : kinetin 1 ppm, m2 : kinetin 3 ppm, m3 : kinetin 5 ppm, m4 : kinetin 7 ppm, p1: pucuk, p2: pangkal

Lampiran 8. Data Pengamatan Rekapitulasi Jumlah Daun (Helai)

Tipe eksplan	Media	mo	m1	m2	m3	m4
	Ulangan					
p1	1	0	20	20	16	24
	2	0	28	14	20	25
	3	25	26	27	27	47
	4	18	28	17	47	40
Rata-rata		10,75	25,5	19,5	27,5	34
p2	1	12	8	5	10	14
	2	0	6	10	6	18
	3	0	33	20	11	8
	4	0	13	11	35	18
Rata-rata		3	15	10,25	15,5	14,5

Keterangan : m0 : kinetin 0 ppm, m1 : kinetin 1 ppm, m2 : kinetin 3 ppm, m3 : kinetin 5 ppm, m4 : kinetin 7 ppm, p1: pucuk, p2: pangkal.

Lampiran 9. Data Pengamatan Rekapitulasi Jumlah Akar (Buah)

Tipe eksplan	Media	mo	m1	m2	m3	m4
	Ulangan					
p1	1	0	1	9	8	17
	2	0	9	4	10	20
	3	3	10	5	7	42
	4	4	10	15	12	24
Rata-rata		1,75	7,5	8,25	9,25	25,75
p2	1	6	1	0	3	9
	2	0	0	5	3	8
	3	0	15	8	1	9
	4	0	9	3	10	2
Rata-rata		1,5	6,25	4	4,25	6

Keterangan : m0 : kinetin 0 ppm, m1 : kinetin 1 ppm, m2 : kinetin 3 ppm, m3 : kinetin 5 ppm, m4 : kinetin 7 ppm, p1: pucuk, p2: pangkal

Lampiran 10. Data Pengamatan Rekapitulasi Pertambahan Tinggi Eksplan (cm)

Tipe eksplan	Media	mo	m1	m2	m3	m4
	Ulangan					
p1	1	1,7	1,2	3,5	0,2	1,1
	2	1,5	3,3	1,5	0,9	1,8
	3	2,6	2,3	1,3	1,1	1,9
	4	1,9	2,1	2	2	2,6
Rata-rata		1,125	2,225	2,075	1,05	1,85
p2	1	0,7	2,2	1,8	1,6	1,6
	2	2,3	0,2	2,2	1,9	0,4
	3	2,3	2,9	0,4	1,7	2,2
	4	1,2	0,5	0,3	1	0,6
Rata-rata		0,175	0,9	0,175	0,25	0,25

Keterangan : m0 : kinetin 0 ppm, m1 : kinetin 1 ppm, m2 : kinetin 3 ppm, m3 : kinetin 5 ppm, m4 : kinetin 7 ppm, p1: pucuk, p2: pangkal

Lampiran 11. Komposisi Larutan Stok untuk Media Murashige and Skoog (MS)

Nama Stok	Komposisi	Jumlah Stok (g/l)	Volume yg dipipet (ml/l)
A	NH_4NO_3	82,5	20
B	KNO_3	95,0	20
C	KH_2PO_4	34	5
	H_3BO_3	1,24	
	Na_2MoO_4	0,05	
	$\text{CoCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,005	
	KI	0,66	
D	$\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	88,0	5
E	MgSO_4	74,0	5
	MgSO_4	4,4	
	ZnSO_4	1,72	
	CuSO_4	0,005	
F	Na_2EDTA	7,45	5
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5,57	
Vitamin	Tiamin HCL	0,02	5
	Asam Nikotinat	0,1	
	Piridoksin HCL	0,1	
Myo	Myoinositol	10	10



Lampiran 12. Gambar Proses Penanaman (inisiasi)



Lampiran 13. Gambar Proses Pengukuran Tinggi *Planlet*